Aus der hygienisch-bakteriologischen Abteilung der Kaiser Wilhelms-Akademie.
Leiter: Regierungs-Medizinalrat Prof. Dr. Konrich.

Über die Bereitungsweise der 5% Hammelblutaufschwemmung für die Komplementbindung.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

DER

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

AN DER

FRIEDRICH-WILHELMS-UNIVERSITÄT
ZU BERLIN

BIBLIOTHEEK RIJKS UNIV. LEIDEN

vorgelegt von

Hans Willerding,
approb. Arzt in Berlin.

Tag der Promotion: 28. Februar 1921.

Hermann Blanke's Buchdruckerei, Berlin C. 54,
Kleine Rosenthalerstr. 9.

329

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität Berlin.

Prodekan: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Rubner.

Referenten: Regierungs-Medizinalrat Prof. Dr. Konrich.
Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Flügge.

Auszug.

In der Komplementbindungsreaktion arbeitet man mit einer scheinbar konstanten Grösse, der 5% Hammelblutkörperchenaufschwemmung, in Wirklichkeit ist diese Aufschwemmung aber nicht konstant, d. h. immer von gleicher Dichte. Mit Hilfe der Blutkörperchenzählmethode wurde an einer grossen Reihe von Versuchen die Dichte der Aufschwemmungen festgestellt. Es stellte sich dabei heraus, dass eine Aufschwemmung, die in üblicher Weise dreimal in einer Zentrifuge mit hoher Umdrehungszahl und einem grossen Radius, also einer hohen Randgeschwindigkeit (69 skm) gewaschen war, eine bedeutend dichtere war als eine Suspension aus einer Zentrifuge mit geringerer Umdrehungszahl und kleinerem Radius (30 skm Randgeschwindigkeit). Die Dauer der Waschung wirkt ebenfalls auf die Dichte ein, allerdings in geringerem Grade als die Grösse der Zentrifugalkraft. Bei zu starkem Zentrifugieren, wie es zum Beispiel bei 10—12 maligem Waschen bei 69 skm Randgeschwindigkeit eintritt, findet man in den hergestellten Aufschwemmungen Methämoglobinbildung, gleichzeitig finden sich vermehrte Blutschatten in der Aufschwemmung, dementsprechend nimmt die Konzentration wieder ab. Eine grosse Zentrifuge liefert in kurzer Zeit eine dichtere Aufschwemmung als eine kleine Zentrifuge bei der 10fachen Einwirkungsdauer.

Durch weitere Versuche wurde bewiesen, dass ein festes, wechselseitiges Verhältnis zwischen Ambozeptor, Komplement und Dichte der 5% Aufschwemmung besteht; infolgedessen muss auch bei den höher konzentrierten Aufschwemmungen aus einer grossen Zentrifuge der Titer des hämolytischen Systems ein schwächerer sein als bei den gering konzentrierten Suspensionen. Bei mehreren am selben Tage und vom gleichen Blut hergestellten und verschieden konzentrierten

Aufschwemmungen fiel der Titer ganz verschieden aus; bei sehr konzentrierten Aufschwemmungen gab es zuweilen überhaupt keine Hämolyse, wenn man, wie in der Praxis üblich, mit 10% Komplement arbeitet und dieses nicht auch noch mit steigenden und fallenden Dosen austitriert. Ausser der Höhe der Konzentration der Aufschwemmungen haben auch noch uns bisher unbekannte Faktoren Einfluss auf den Titer, vielleicht handelt es sich um Oberflächenspannungsverhältnisse der Erythrozyten, die durch zu starkes Zentrifugieren verändert werden.

Aus den verschiedenen Dichten der Aufschwemmungen ist zu erklären, dass in den verschiedenen Laboratorien, die man mit den verschiedenen Zentrifugen vergleichen kann, — jedes Labor hat je eine andere Zentrifuge — der auf eine bestimmte Titerdosis eingestellte Ambozeptor einen ganz anderen Titer ergibt als den angegebenen.

Zur Vermeidung dieser Unstimmigkeiten muss man die Forderung nach genauem Austitrieren des Komplements aufstellen und vor allem nach einer immer gleichmässig dichten Aufschwemmung. Letzteres wird dadurch erreicht, dass man von dem defibrinierten Blut die Hälfte als Formbestandteile und die andere Hälfte als Serum annimmt und vor dem Waschen die vorher berechnete, notwendige Menge Blut abmisst und sie wäscht. Von dieser abgemessenen und vorher gewaschenen Menge wird dann die 5% Suspension hergestellt. Da alle Hammel eine gleiche Erythrozytenzahl (etwa 10000000 im cbmm) haben, und diese Zahl an den einzelnen Tagen immer die gleiche bleibt, bleibt die Dichte der Aufschwemmung immer konstant und ergibt demgemäss bei Benutzung desselben Ambozeptors auch immer einen gleichen Titer. Dieses Verfahren ist seit geraumer Zeit in der Kaiser-Wilhelms-Akademie mit sehr gutem Erfolg in Anwendung, es hat den Vorteil der Sparsamkeit an Blut — es wird immer nur die berechnete, notwendige Menge durch Punktion gewonnen, — der grösseren Genauigkeit und einer bedeutenden Bequemlichkeit vor den sonst üblichen Verfahren voraus.